Aus dem Hygiene - Institut der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. R.- E. Bader

UNTERSUCHUNGEN ÜBER SERUMENZYME BEIM KANINCHEN UND IHRE BEEINFLUSSUNG DURCH BAKTERIÄMIE

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Doktogrades
der Medizin

dem Fachbereich Theoretische Medizin
der Eberhard - Karls - Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Klaus - Herbert Manncke
aus Köln

1978

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536519_0036

Aus dem Hygiene - Institut der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. R.- E. Bader

UNTERSUCHUNGEN ÜBER SERUMENZYME BEIM KANINCHEN UND IHRE BEEINFLUSSUNG DURCH BAKTERIÄMIE

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Doktogrades
der Medizin

dem Fachbereich Theoretische Medizin
der Eberhard - Karls - Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Klaus - Herbert Manncke
aus Köln

1978

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan:	Prof. Dr.med. H.J.Mallach
1.Berichterstatter:	Doz. Dr.med. U. Ullmann
	(Prof. Dr.med. R.-E.Bader)
2.Berichterstatter:	Doz. Dr.med. K.H. Niessen

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I	Einleitung	1
II	Material und Methode	
	1. Versuchstiere	4
	2. Geräte und Reagenzien	4
	3. Bakterienarten	5
	4. Herstellung und Standardisierung der Bakteriensuspensionen	5
	5. Injektion der Bakterien	6
	6. Blutabnahme, Behandlung und Lagerung der Proben	6
	a) Vorversuch	6
	b) Erster Nebenversuch	6
	c) Zweiter Nebenversuch	6
	d) Hauptversuche	7
	7. Bestimmung der Enzymaktivitäten	7
	8. Bestimmung von Hämoglobin im Serum	8
	9. Statistik	10
III	Ergebnisse	
	1. Vorversuche zur Bestimmung von Normbereichen im Kaninchenserum	11
	2. Nebenversuche	16
	a) Der Hämoglobingehalt im Serum und das Verhalten der Lactat-Dehydrogenase und der sauren Phosphatase	16
	b) Direkter Vergleich von Enzymaktivitäten in Serum und Plasma	19
	3. Vergleich der Normwertbereiche in Serum und Plasma	23
	4. Hauptversuche	32

Seite

IV Diskussion

1. Blutentnahmeverfahren und Behandlung der Proben 42
2. Normalwerte im Kaninchenserum 43
3. Vergleich der Meßergebnisse von Serum- und Plasmaproben 44
4. Einfluß der Hämolyse auf die Meßergebnisse 45
5. Beeinträchtigung der Meßergebnisse durch Thrombocytolyse 46
6. Pathogenität der benutzten Erreger 48
7. Enzymaktivitäten nach Inokulation von Bakterien 49
8. Überlegungen zur Entstehung der gemessenen Enzymveränderungen 50

V Zusammenfassung 55

VI Literaturverzeichnis 56

I. Einleitung

Die Bestimmung von Enzymaktivitäten im Blutplasma und anderen Körperflüssigkeiten hat in der klinischen Diagnostik und Verlaufskontrolle vieler Erkrankungen einen festen Platz eingenommen. Hierbei haben sich die Enzymaktivitäten als empfindliche und spezifische Parameter für Art und Schweregrad dieser Krankheiten erwiesen. Enzyme sind Proteine mit reaktionsspezifischer, oft sogar substratspezifischer Katalysatorfunktion. Als indirektes Maß für ihre Konzentration kann die Geschwindigkeit gelten, mit der unter definierten Bedingungen im Überschuß angebotenes Substrat verbraucht wird und das Reaktionsprodukt entsteht, ihre Aktivität also.
Unter diagnostischen Gesichtspunkten lassen sich eine Reihe von Enzymen zu einer Gruppe von Indikatorenenzymen zusammenfassen. Dies sind im wesentlichen intrazellulär lokalisierte Enzyme des Gewebestoffwechsels. Ihre normalerweise im Plasma nachweisbaren Aktivitäten sind durch die physiologischen Zellmauserungs- und Zellstoffwechselvorgänge bestimmt (9, 10, 44). Erhöhte Plasmaaktivitäten dieser Enzyme zeigen eine Zellschädigung an.
Die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) ist etwa zu je 50 % im Cytoplasma und in den Mitochondrien lokalisiert. Sie ist ein Enzym des Aminosäurestoffwechsels und als gruppenübertragendes Ferment zum Beispiel an der Zulieferung von Aminogruppen für die Harnstoffsynthese beteiligt. In der Klinik wird sie hauptsächlich bei Diagnose und Kontrolle von Leber- und Herzerkrankungen bestimmt.
Auch die Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) ist ein Enzym des Aminosäurestoffwechsels. Sie ist nur im Cytoplasma lokalisiert und zeigt daher früher und deutlicher als die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase bereits geringe

Membranschädigungen an. Eine starke Aktivitätszunahme der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase deutet auf eine Schädigung der Organellen hin, da dann auch der mitochondrale Anteil des Enzyms frei geworden sein muß.
Die Lactat-Dehydrogenase (LDH) ist eine funktionelle Einheit von mindestens fünf im Cytoplasma zu findenden Isoenzymen, die ein spezifisches Organverteilungsmuster aufweisen. Sie ist ein Enzym der Glykolyse. Eine Aktivitätserhöhung im Plasma liefert diagnostisch wichtige Hinweise besonders bei Herzmuskelschäden, perniziösen und hämolytischen Anämien, bei einigen Tumoren und bei Lebererkrankungen, hier im Vergleich mit anderen Enzymen.
Ein Glykolyseenzym des "oxydativen Pentoseweges" ist die Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G6P-DH). Sie katalysiert die Dehydrierung von Glukose-6-Phosphat zu 6-Phosphogluconat durch NADP. In hohen Konzentrationen findet sie sich in allen korpuskulären Blutbestandteilen, im Fettgewebe, der mamma lactans und mit geringer Aktivität in Leber, Pankreas, Nieren, Lunge, Gehirn, Skelett- und Herzmuskulatur.
Die Leucin-Aminopeptidase (LAP) gehört zu der Gruppe der sogenannten Exkretionsenzyme. Diese sind nur in geringem Umfang in der Leber lokalisiert, werden aber mit der Galle ausgeschieden. Eine Aktivitätserhöhung im Plasma deutet auf eine Abflußstörung im Gallengangssystem hin, daher auch die Bezeichnung Cholostaseenzym. Die Leucin-Aminopeptidase wird in absteigender Konzentration in Nieren, Dünndarm, Muskel, Gehirn, Colon, Milz, Hoden, Leber, Magenschleimhaut, Pankreas und Thymus gefunden (13). Sie greift bevorzugt Tripeptide an, deren endständige Aminogruppe von Leucin gestellt wird (37).
Auch die alkalische Phosphatase (AP) wird zu dieser Gruppe gerechnet. Die größten Aktivitäten wurden in den

Osteoblasten, in der Leber und im Dünndarm nachgewiesen (38). Die alkalische Phosphatase besteht ebenfalls aus mehreren Isoenzymen (22, 35, 37).
Die sauren Phosphatasen (SP) lassen sich nach ihren pH-Optimum in mehrere Typen unterteilen (38). In neueren Untersuchungen (29, 30) wurden saure Phosphatasen aus Leukocyten, Rattenleberzellen und Alveolarmakrophagen von Kaninchen mittels Elektrophorese aufgetrennt und bis zu sieben Isoenzyme gefunden (4). Besonders reich an saurer Phosphatase sind die Prostata (Typ I), die Erythrocyten (Typ II) und die Thrombocyten (32, 38). Die beiden Phosphatasen besitzen nur geringe Substratspezifität. Die verschiedenen Phosphoresterbindungen werden jedoch unterschiedlich schnell hydrolysiert. Aufgrund des Enzymreichtums bestimmter Organe, wie der Muskulatur und in besonderem Maße der Leber liegt es nahe, Enzymbestimmungen bei der Diagnostik von Erkrankungen dieser Organe durchzuführen. Hinweise auf das Verhalten der Serumenzyme bei bakteriämischen und infektiösen Zuständen lassen sich in der Literatur kaum finden. Deshalb schien es lohnenswert zu untersuchen, ob und inwieweit eine künstlich herbeigeführte Bakteriämie die Aktivität der genannten Enzyme beeinflußt.
Für die eigenen Versuche wurden Erreger gewählt, die häufig bei der Sepsis des Menschen gefunden werden.

II. Material und Methode

1. Versuchstiere

In allen Versuchen wurden mischrassige Hauskaninchen mit einem Gewicht zwischen drei und vier kg benutzt. Eine Differenzierung nach Alter und Geschlecht fand nicht statt.

2. Geräte und Reagenzien

Folgende Geräte und Reagenzien wurden verwendet:

Spektralphotometer	Typ DB mit 5 Zoll Kompensationsstreifenblattschreiber
Gitterphotometer	Typ DB-G mit 10 Zoll Kompensationsstreifenblattschreiber (Fa. Beckman Instruments, München)
Thermostat	Typ Thermomix II (Fa. Braun, Melsungen)
Thermostat	Typ K 4 R Elektronic mit PTR-Regler R 20 K (Fa. M G W, Lauda)
pH-Meter	Typ 28 mit Glaselektrode G 202 C und Kalomelelektrode K 401 (Fa. Radiometer, Copenhagen)
Heißluftsterilisator	Typ 15 W (Fa. Memmert, Schwabach)
Mikroliterpipetten	(für 50 und 100 ul) (Fa. Eppendorf, Hamburg)
Silikospray^{R}	(Fa. Wacker, München)
Liquemin^{R}	(Fa. Hoffmann-La Roche, Grenzach)
Biochemica Testkombinationen:	
	Saure Phosphatase
	Alkalische Phosphatase
	Lactat-Dehydrogenase
	Leucin-Aminopeptidase

Glutamat-Oxalacetat-Transaminase

Glutamat-Pyruvat-Transaminase

Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase (Fa. Boehringer, Mannheim)

Kontrollseren: Precinorm^{R} (Kontrollnummer 109)
Precipath^{R} (Kontrollnummer 105)

Als Chemikalien dienten p.a. Substanzen der Fa. Merck, Darmstadt.

3. Bakterienarten

Folgende Bakterienarten wurden zur Erzeugung einer Bakteriämie benutzt:

a) ß-hämolysierende Streptokokken, serologische Gruppe A (Stamm 12)
b) vergrünende Streptokokken
c) Staphylococcus aureus SG 511
d) Escherichia coli O 119
e) Pseudomonas aeruginosa NCTC 10490
f) Klebsiella pneumoniae DSM 30104

4. Herstellung und Standardisierung der Bakteriensuspensionen

Von Blutagarplatten (5 % Schafsblut in Nähragar CM 3, Fa. Oxoid, London) wurden ca. 24 h alte Reinkulturen in ein Reagenzglas mit steriler physiologischer Kochsalzlösung eingeimpft und homogen suspendiert. Die photometrische Einstellung erfolgte bei 560 nm auf 50 % Transmission (bei Klebsiella pneumoniae auf 70 %).

5. Injektion der Bakterien

Jeweils 2 ml Bakteriensuspension wurden einem Versuchstier in die laterale Ohrvene gespritzt.

6. Blutabnahme, Behandlung und Lagerung der Proben

Das Kaninchenohr wurde mit 70 %igem Alkohol desinfiziert und mit steriler physiologischer Kochsalzlösung abgespült. Bedingt durch sehr unterschiedliche Gefäßverhältnisse war die Blutabnahme mit der Kanüle meist nicht möglich. Im Gegensatz zu den von COHR, JAFFE und MEESEN (8) angegebenen Methoden wurde die Vene mit einem Skalpell angeritzt und das ablaufende Blut tropffrei aufgefangen.

a) Vorversuch

Im Vorversuch wurden je 10 ml Blut in einem maschinell gespülten und anschließend sterilisierten Zentrifugenröhrchen aufgefangen. Ein einfaches Nachspülen mit Aqua dest. ist in den maschinellen Spülvorgang eingeschlossen. Nach halb- bis einstündiger Lagerung im Kühlschrank wurde mit einem dünnen Glasstab oder einer Platinöse der Blutkuchen sorgfältig vom Rand des Röhrchens gelöst und die Probe bei ca. 2000 U/min. 25 min. zentrifugiert. Das überstehende Serum wurde vorsichtig mit einer Pipette entnommen und der Rest bei gleicher Umdrehungszahl 10 min. zentrifugiert. Nach abermaligem Abhebern wurde die Probe bei -25^{o} C eingefroren.

b) Erster Nebenversuch

Im ersten Nebenversuch wurde das Blut nicht in einem sondern in vier Röhrchen getrennt aufgefangen und dann wie oben beschrieben behandelt.

c) Zweiter Nebenversuch

Im zweiten Nebenversuch wurde das Blut in zwei Röhrchen

aufgefangen, von denen eines 1 - 2 Tropfen Heparin enthielt. Bei diesem entfiel die Manipulation mit dem Glasstab, das andere wurde wie unter 6. a beschrieben behandelt.

d) Hauptversuche

Bei allen Hauptversuchen wurde vor und 24, 48 und 72 h nach der Injektion der Mikroorganismen eine Blutprobe entnommen. Im Unterschied zu den Nebenversuchen wurden die Röhrchen jedoch mehrfach mit Aqua dest. nachgespült, nach Trocknung im Heißluftsterilisator mit Silikonöl ausgesprüht und mit 3 - 4 Tropfen Heparin beschickt. Zentrifugation und Lagerung des Plasmas erfolgte wie unter 6.a beschrieben.

Die Messung der Enzymaktivitäten wurde einige Tage nach Entnahme der letzten Probe vorgenommen. Die Lagerzeit aller Proben war im Mittel eine Woche.

Um einen Flüssigkeitsersatz bei den Versuchstieren zu gewährleisten, wurden Rüben und Gras zugefüttert beziehungsweise physiologische Kochsalzlösung injiziert.

7. Bestimmung der Enzymaktivitäten

Die Enzymaktivitäten wurden mit den handelsüblichen Testkombinationen der Firma Boehringer, Mannheim unter Verwendung folgender Methoden bestimmt:

a) die G O T nach KARMEN et al. (25)
b) die G P T nach WROBLEWSKI, F. et al. (52)
c) die L D H nach WROBLEWSKI, F. et al. (51)
d) die L A P nach NAGEL, WILLIG und SCHMIDT (35)
e) die G 6 P - D H nach KORNBERG, A. et al. (27)
f) die alkalische Phosphatase nach BESSEY, O. A. et al. (5)

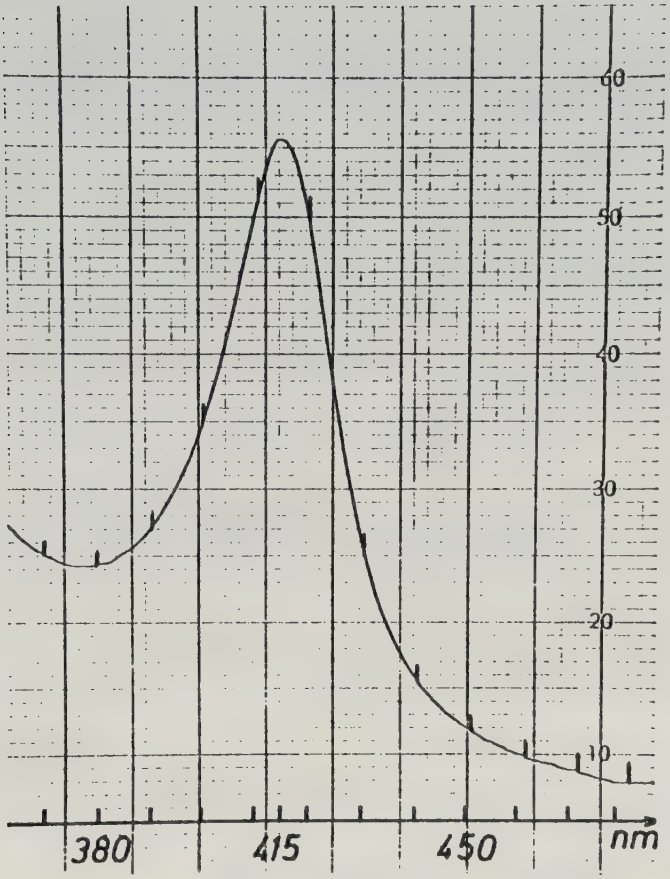
g) die saure Phosphatase nach ANDERSCH, M. et al. (2)
Aus dem kontinuierlich registrierten Reaktionsablauf wurde die Enzymaktivität berechnet.

8. Bestimmung von Hämoglobin im Serum

Bei der von HARBOE (19) angegebenen Methode wird Hämoglobin als Oxyhämoglobin in 0,01 %iger Na_2CO_3 über die Lichtabsorption bei 415 nm direkt photometrisch gemessen. Es wird die Extinktion bei 450, 415 und 380 nm gemessen und das HbO_2 nach folgender Formel berechnet:

$$2 \times E_{415\ nm} - (E_{450\ nm} + E_{380\ nm}) \times \text{Faktor} = \text{mg } HbO_2/100\ ml$$

In den Faktor gehen ein der Extinktionskoeffizient für HbO_2 bei 415 nm, ein Korrekturfaktor für Plasmaeigenfarbe und ein Verdünnungsfaktor.



zu Abb. 1: Absorptionsspektrum von Oxyhämoglobin zweifach verstärkt und mit einer Vorlaufgeschwindigkeit von 2 Zoll/min. aufgezeichnet.
Das Absorptionsmaximum liegt bei 415 nm

Zur Berechnung der in III 1., 2 a und 3. angegebenen statistischen Größen wurden aus den Geigy Tabellen (50) folgende Formeln benutzt:

a) Mittelwert (geschätzt)

$$\bar{x} = \frac{x}{n}$$

b) Varianz (geschätzt)

$$s^2 = \frac{(x - \bar{x})}{n - 1}$$

c) Standardabweichung

$$s = \frac{Sx}{n - 1}$$

d) Standardabweichung des Mittelwertes

$$s_{\bar{x}} = \frac{s}{n}$$

Zur Berechnung der in III 2. b angegebenen Größen wurden folgende Formeln benutzt:

a) Kovarianz (geschätzt)

$$s_{xy} = \frac{(x - \bar{x})\,(y - \bar{y})}{} = \frac{Sxy}{n - 1}$$

b) Korrelationskoeffizient (geschätzt)

$$r = \frac{s_{xy}}{s_x \cdot s_y} = \frac{s_{xy}}{Sx \cdot Sy}$$

c) Regressionskoeffizient

$$b_{yx} = \frac{Sxy}{Sx}$$

$$a_{yx} = \bar{y} - b_{yx} \cdot \bar{x}$$

III. Ergebnisse

1. Vorversuche zur Bestimmung von Normbereichen im Kaninchenserum

Mit den Vorversuchen sollen bei Kaninchen statistisch abgesicherte Ausgangswerte von Enzymaktivitäten ermittelt werden. Die Mittelwerte sind durch Unterstreichung hervorgehoben. Für die einzelnen Enzyme ergibt sich dabei folgendes Bild:

Glutamat-Oxalacetat-Transaminase

Anzahl der Messungen: 36
Mittelwert: 13,416 MW - 2s = 4,66 MW + 2s = 22,67
Varianz: 20,478
Standardabweichung: 4,525
Standardabweichung des Mittelwertes: 0,754
Variationskoeffizient: 33,729 %

In den Tabellen eins bis sieben sind die Einzelergebnisse in Relation zur Gesamtzahl prozentual aufgeschlüsselt.

Tabelle 1

Aktivität mU/ml	Häufigkeit	Anteil an Gesamtzahl in Prozent
7	2	5,6
9	7	19,4
11	8	22,2
13	8	22,2
16	2	5,6
18	2	5,6
20	4	11,1
22	3	8,3

Glutamat-Pyruvat-Transaminase

Anzahl der Messungen: 41

Mittelwert: 14,609 MW - 2a = 6,173 MW / 2a = 23,046

Varianz: 17,793

Standardabweichung: 4,218

Standardabweichung des Mittelwertes: 0,658

Variationskoeffizient: 28,873 %

Tabelle 2

Aktivität mU/ml	Häufigkeit	Anteil an Gesamtzahl in Prozent
7	1	2,4
9	3	7,3
11	11	26,8
13	7	17,1
16	5	12,2
18	7	17,1
20	5	12,2
22	1	2,4
25	1	2,4

Lactat-Dehydrogenase

Anzahl der Messungen: 35

Mittelwert: 129,828 MW - 2a = 61,276 MW / 2a = 198,380

Varianz: 1174,850

Standardabweichung: 34,276

Standardabweichung des Mittelwertes: 5,793

Variationskoeffizient: 26,4/1 %

Tabelle 3

Aktivität mU/ml	Häufigkeit	Anteil an Gesamtzahl in Prozent
57	1	2,9
67	2	5,7
76	1	2,9
86	2	5,7
95	1	2,9
115	3	8,6
115	1	2,9
124	2	5,7
134	4	11,4
143	7	20,0
153	6	17,1
162	3	8,6
181	1	2,9
210	1	2,9

Leucin-Aminopeptidase

Anzahl der Messungen: 19

Mittelwert: 22,763 MW - 2s = 9,523 MW + 2s = 35,950

Varianz: 43,648

Standardabweichung: 8,246

Standardabweichung des Mittelwertes: 1,652

Variationskoeffizient: 37,295 %

Tabelle 4

Aktivität mU/ml	Häufigkeit	Anteil an Gesamtzahl in Prozent
13	1	5,3
16	5	26,3
19	3	15,8
23	2	10,5
26	1	5,3
29	6	31,6
32	0	0
36	1	5,3

Alkalische Phosphatase

Anzahl der Messungen: 30

Mittelwert: 23,333 MW - 2s = 6,799 MW + 2s = 39,807

Varianz: 68,354

Standardabweichung: 8,267

Standardabweichung des Mittelwertes: 1,509

Variationskoeffizient: 35,435 %

Tabelle 5

Aktivität mU/ml	Häufigkeit	Anteil an Gesamtzahl in Prozent
10	1	3,3
12	1	3,3
14	3	10,0
16	4	13,3
18	1	3,3
20	4	13,3
22	1	3,3
24	4	13,3
26	3	10,0
28	1	3,3
30	1	3,3
34	1	3,3
36	4	13,3
42	1	3,3

Saure Phosphatase

Anzahl der Messungen: 34

Mittelwert: 30,223 MW - 2a = 11,501 MW + 2s = 48,951

Varianz: 876,552

Standardabweichung: 9,326

Standardabweichung des Mittelwertes: 1,605

Variationskoeffizient: 30,974 %

Tabelle 6

Aktivität mU/ml	Häufigkeit	Anteil an Gesamtzahl in Prozent
10 - 14	2	5,9
15 - 19	3	8,2
20 - 24	5	14,7
25 - 29	5	14,7
30 - 34	10	29,4
35 - 39	5	14,7
40 - 44	1	2,9
45 - 49	2	5,9
50 - 54	1	2,9

Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase

Anzahl der Messungen: 14

Mittelwert: 0,162 MW + 2a = 0,85

Varianz: 0,122

Standardabweichung: 0,394

Standardabweichung des Mittelwertes: 0,092

Variationskoeffizient: 214,814 %

Tabelle 7

Aktivität mU/ml	Häufigkeit	Anteil an Gesamtzahl in Prozent
0	11	78,6
0,3	1	7,1
1	2	14,3

2. Nebenversuche

a) Der Hämoglobingehalt im Serum und das Verhalten der Lactatdehydrogenase und der sauren Phosphatase

Wegen des hohen Gehaltes der Erythrocyten an Lactat-Dehydrogenase und saurer Phosphatase werden deren Meßergebnisse durch Hämolyse besonders beeinträchtigt. Daher wurde als Parameter für den Grad der Hämolyse mit der Methode nach HARBOE (19) der Hämoglobingehalt im Serum bestimmt. Dieser wurde zunächst an Seren ermittelt, die wie in II 6b (S. 6) beschrieben gewonnen worden waren. Die Resultate von sechs Versuchen werden dargestellt. Im Anschluß daran wird versucht, eine mathematische Beziehung zwischen Serum-Hämoglobin und Lactat-Dehydrogenase abzuleiten.

In der Tabelle acht sind die Ergebnisse von sechs Versuchen aufgeführt, bei denen eine Blutprobe in vier Röhrchen aufgefangen worden war. Es wurde untersucht, ob die Enzymaktivitäten mit dem Hämoglobingehalt korrelieren.

Abkürzungen: Nr. = Röhrchennummer der Teilprobe
Hb = Hämoglobingehalt im Serum in mg/100 ml
LDH = Lactat-Dehydrogenase in U/l
SP = Saure Phosphatase in U/l

Tabelle 8

1. Versuch

Röhrchen-Nr.	1	2	3	4
Serum-Hb	34,27	18,81	10,7	21,09
L D H	210	134	115	210
S P	52,5	49,5	46,5	46,5

2. Versuch

Röhrchen-Nr.	1	2	3	4
Serum-Hb	19,65	39,29	19,23	15,88
L D H	105	200	143	95
S P	33,3	34,3	31,3	35,3

3. Versuch

Röhrchen-Nr.	1	2	3	4
Serum-Hb	28,84	7,94	36,37	22,15
L D H	124	105	210	105
S P	48,5	34,3	37,4	28,8

4. Versuch

Röhrchen-Nr.	1	2	3	4
Serum-Hb	6,69	5,85	31,35	44,31
L D H	46	67	134	124
S P	34,3	27,3	30,3	36,4

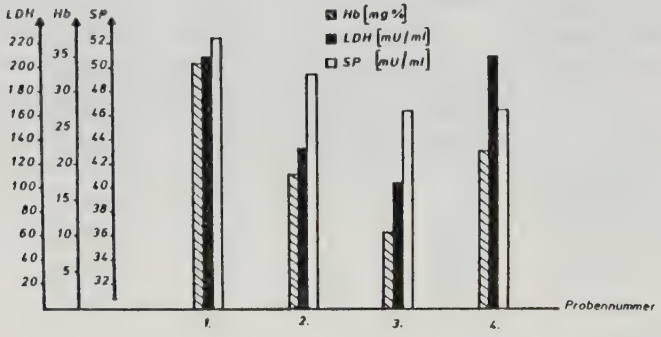
5. Versuch

Röhrchen-Nr.	1	2	3	4
Serum-Hb	4,18	51,42	14,63	27,59
L D H	76	305	124	181
S P	38,9	36,4	34,3	36,4

6. Versuch

Röhrchen-Nr.	1	2	3	4
Serum-Hb	15,72	32,85	10,49	17,56
LDH	95	134	76	95
S P	-	-	-	-

Abb. 2 Gegenüberstellung von Serum-Hämoglobin, Lactat-Dehydrogenase und saurer Phosphatase der vier Fraktionen von Versuch 1 der Tabelle 8.



Wie die Ergebnisse aus Tabelle 8 und die Gegenüberstellung in Abbildung 2 zeigen, werden bei Proben mit geringer Hämolyse auch geringere Enzymaktivitäten gemessen.

Werden die Werte des Serum-Hämoglobins mit denen der Lactat-Dehydrogenase nach denen in II 9. angegebenen statistischen Methoden korreliert, lassen sich folgende Größen berechnen:

$\bar{x}$ = 19,852 S_x = 4643,705

$\bar{y}$ = 130,826 S_y =91177,446

S_{xy}=15335,784

Daraus ergibt sich weiter:

Kovarianz: 547,706

Korrelationskoeffizient: 0,7452

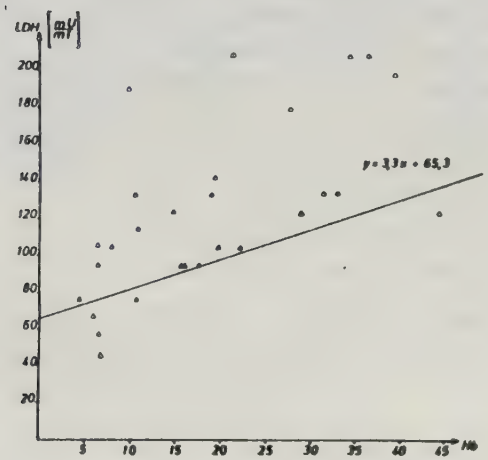
Regressionskoeffizient: 3,302

a_{yx} = 65,310

Benutzt wurden die Daten aus den Tabellen 8 und 9 (Serum-Hämoglobin und Serum-Lactat-Dehydrogenase). Aus insgesamt 29 Wertepaaren ergibt sich also eine lineare Abhängigkeit zwischen dem Serum-Hämoglobin und der Lactat-Dehydrogenase (Abbildung 3). Für die vorliegenden Werte lautet die Regressionsgerade:

$$Y = 3{,}302\ X + 65{,}310$$

Abb. 3: Regressionsgerade für Serum-Hämoglobin und Lactat-Dehydrogenase



b) Direkter Vergleich von Enzymaktivitäten in Serum und Plasma

Diese Versuchsserie soll zeigen, daß bei Verwendung von Gerinnungshemmstoffen (z.B. Heparin) die Gefahr einer In-Vitro-Hämolyse vermindert wird. Ferner soll dadurch

der Austritt von in Thrombozyten befindlichen Enzymen, besonders der sauren Phosphatase, verhindert werden. Serum und Plasma wurden wie in II 6c (S. 9) beschrieben gewonnen. Die Ergebnisse von sechs Einzelversuchen sind in Tabelle neun zusammengestellt. Um den Unterschied zwischen den Serumwerten und den dazugehörigen Plasmawerten zu verdeutlichen, wurde der prozentuale Unterschied errechnet. Der Serumwert wurde mit 100 Prozent festgesetzt, der jeweils korrespondierende Plasmawert ist bei negativem Vorzeichen um den angegebenen Prozentsatz kleiner und bei positiven Vorzeichen größer. Der Wert $\bar{x}$ gibt dann den in 6 Versuchen erhaltenen Mittelwert der prozentualen Unterschiede an. Bei den Angaben in Klammern wurde der Versuch 4 wegen offensichtlich überhöhter Ergebnisse nicht berücksichtigt.

Tabelle 9

Versuchsnr.	1	2	3	4	5	6
Serum-Hb	10,45	21,32	9,61	6,27	6,27	6,27
Plasma-Hb	5,85	8,11	7,11	14,63	5,02	2,09
Differenz in Prozent	-44,02	-61,97	-26,02	+133,33	-19,37	-66,7

$\bar{x}$ = 14,12 % (ohne Nr. 4 - 52,41 %)

Versuchsnr.	1	2	3	4	5	6
Serum-GOT	7	9	11	7	9	7
Plasma-GOT	4	7	9	4	7	7
Differenz in Prozent	-42,85	-22,	-18,18	42,85	-22,22	± 0

$\bar{x}$ = -24,72 %

Versuchsnr.	1	2	3	4	5	6
Serum-GPT	11	13	11	11	18	11
Plasma-GPT	11	13	13	16	16	13
Differenz in Prozent	± 0	± 0	+ 18,18	+45	+11	+18,18

$\bar{x}$ = + 11,72

Versuchs-Nr.	1	2	3	4	5	6
Serum-LDH	134	477	191	57	95	105
Plasma-LDH	86	210	181	220	67	49
Differenz in Prozent	-35,82	-55,98	-5,24	+285,98	-29,52	-53,34

$\bar{x}$ = 17,67 (ohne Nr. 4: -35,98 %)

Versuchs-Nr.	1	2	3	4	5	6
Serum-LAP	32	32	55	55	45	39
Plasma-LAP	32	32	81	39	87	29
Differenz in Prozent	± 0	± 0	+ 18,18	+45	-11	+18,18

$\bar{x}$ = + 14,31

Versuchs-Nr.	1	2	3	4	5	6
Serum-AP	38	92	48	46	54	32
Plasma-AP	42	73	52	50	42	16
Differenz in Prozent	+ 10,52	-20,65	+ 8,33	+ 8,69	-22,22	-50

$\bar{x}$ = -10,88

Versuchs-Nr.	1	2	3	4	5	6
Serum-SP	47,5	47,5	35,9	37,4	48,5	23,3
Plasma-SP	25,3	29,3	15,7	42,4	38,4	16,2
Differenz in Prozent	-46,73	-38,31	-56,26	+13,36	-20,82	-30,47

$\bar{x}$ = -29,87

In den Abbildungen 4 bis 6 sind die Ergebnisse der direkten Vergleichsmessungen von Hämoglobin, Lactat-Dehydrogenase und Glutamat-Oxalacetat-Transaminase in Serum und Plasma aus Tabelle 9 synoptisch dargestellt.

Abb. 4

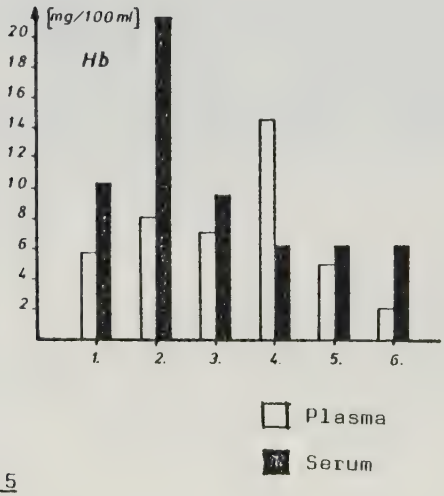


Abb. 5

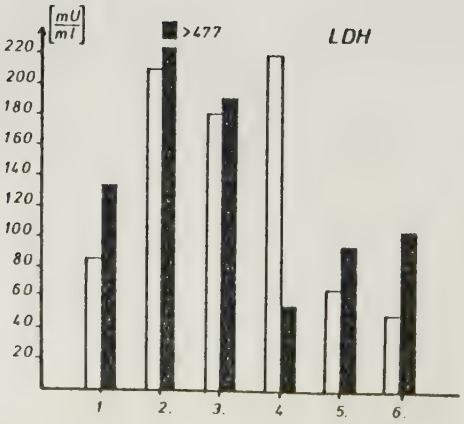
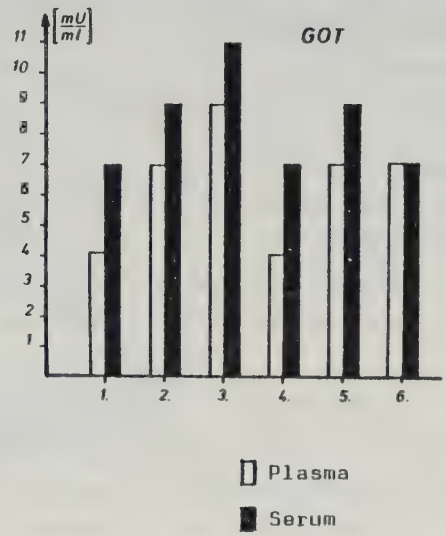


Abb. 6



Von Ausnahmen abgesehen ergeben die Messungen, daß der Teil einer Blutprobe, der mit Antikoagulantien behandelt worden war, im Durchschnitt nur etwa halb soviel Hämoglobin enthielt, wie der unbehandelte Teil der gleichen Probe. Entsprechend wurden für die meisten Enzyme geringere Aktivitäten gemessen.

3. Vergleich der Normwertbereiche in Serum und Plasma

Aus den Eingangswerten der Hauptversuche (in den Tabellen 17 - 22 der Messwert zur Zeit Null) und den Plasmawerten aus dem 2. Nebenversuch (III 2.b) wurden mit den in II 9. angegebenen statistischen Methoden die Normbereiche der Enzymaktivitäten im Plasma errechnet. Die

Mittelwerte sind jeweils wieder unterstrichen.
Es ergaben sich folgende Werte:

Glutamat-Oxalacetat-Transaminase

Anzahl der Messungen: 18
Mittelwert: 10,722 MW - 2s = 1,352 MW + 2s = 22,796
Varianz: 36,447
Standardabweichung: 6,037
Standardabweichung des Mittelwertes: 1,422
Variationskoeffizient: 56,305 %

In den Tabellen 10 bis 16 sind die Einzelergebnisse in Relation zur Gesamtzahl prozentual aufgeschlüsselt.

Tabelle 10

Aktivität mU/ml	Häufigkeit	Anteil an Gesamtzahl in Prozent
4	2	11
7	5	27,7
9	4	22,2
11	2	11
13	1	5,5
16	2	11
18	1	5,5
29	1	5,5

Glutamat-Pyruvat-Transaminase

Anzahl der Messungen: 18
Mittelwert: 12,722 MW - 2s = 2,188 MW + 2s = 23,256
Varianz: 27,741
Standardabweichung: 5,267
Standardabweichung des Mittelwertes: 1,241
Variationskoeffizient: 41,4 %

Tabelle 11

Aktivität mU/ml	Häufigkeit	Anteil an Gesamtzahl in Prozent
7	3	16,6
9	4	22,2
11	4	22,2
13	2	11,1
18	1	5,5
20	2	11,1
22	2	11,1

Lactat-Dehydrogenase

Anzahl der Messungen: 17

Mittelwert: 80,882 MW - 2s = 12 MW + 2s = 149,764

Varianz: 1186,234

Standardabweichung: 34,441

Standardabweichung des Mittelwertes: 8,353

Variationskoeffizient: 42,581 %

Tabelle 12

Aktivität mU/ml	Häufigkeit	Anteil an Gesamtzahl in Prozent
38	1	5,9
48	3	17,7
57	2	11,8
67	3	17,7
76	1	5,9
86	1	5,9
95	2	11,8
115	2	11,8
134	1	5,9
162	1	5,9

Leucin-Aminopeptidase

Anzahl der Messungen: 18

Mittelwert: 30,222 MW - 2s = 9,958 MW + 2s = 50,485

Varianz: 102,653

Standardabweichung: 10,131

Standardabweichung des Mittelwertes: 2,388

Variationskoeffizient: 33,524 %

Tabelle 13

Aktivität mU/ml	Häufigkeit	Anteil an Gesamtzahl in Prozent
19	1	5,6
23	6	33,3
26	3	16,7
29	1	5,6
32	3	16,7
39	2	11,1
48	1	5,6
58	1	5,6

Alkalische Phosphatase

Anzahl der Messungen: 16

Mittelwert: 20,625 MW - 2s = 10,193 MW + 2s = 31,057

Varianz: 27,216

Standardabweichung: 5,216

Standardabweichung des Mittelwertes: 1,304

Variationskoeffizient: 25,289 %

Tabelle 14

Aktivität mU/ml	Häufigkeit	Anteil an Gesamtzahl in Prozent
14	1	6,3
16	1	6,3
18	1	6,3
20	3	18,8
22	6	37,5
24	2	12,5
28	1	6,3
36	1	6,3

Saure Phosphatase

Anzahl der Messungen: 18

Mittelwert: 29,85 MW - 2s = 8,438 MW + 2s = 51,262

Varianz: 114,636

Standardabweichung: 10,706

Standardabweichung des Mittelwertes: 2,523

Variationskoeffizient: 35,865 %

Tabelle 15

Aktivität mU/ml	Häufigkeit	Anteil an Gesamtzahl in Prozent
15 - 19	4	22,2
20 - 24	4	22,2
25 - 29	1	5,5
30 - 34	3	16,7
35 - 39	1	5,5
40 - 44	4	22,2
45 - 49	1	5,5

Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase

Anzahl der Messungen: 13

Mittelwert: 0,923 MW + 2s = 2,705

Varianz: 0,794

Standardabweichung: 0,891

Standardabweichung des Mittelwertes: 0,257

Variationskoeffizient: 96,533 %

Tabelle 16

Aktivität mU/ml	Häufigkeit	Anteil an Gesamtzahl in Prozent
0	5	38,5
1	5	38,5
2	2	15,4
3	1	7,7

In den Abbildungen 7 bis 9 werden die prozentualen Verteilungen der Einzelergebnisse aus den Tabellen 1 und 10, 2 und 11 sowie 3 und 12 nebeneinander gestellt. Besonders Abbildung 8 zeigt, daß bei Messungen im Plasma der prozentual größte Anteil der Einzelergebnisse in weit niedrigeren Bereichen lag als bei den Messungen im Serum. In einem Bereich zwischen 48 und 76 U/l waren 53 % der Einzelergebnisse, wenn die Enzymaktivität im Plasma bestimmt wurde. Dagegen lagen 49 % der Einzelergebnisse bei Messungen im Serum zwischen 134 und 153 U/l.

Abb. 7

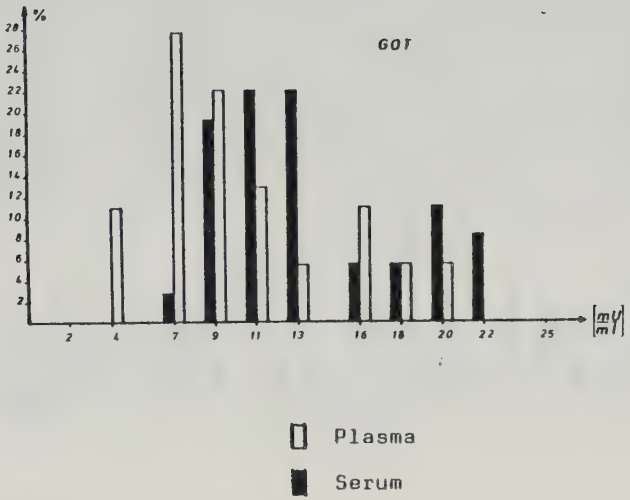


Abb. 8

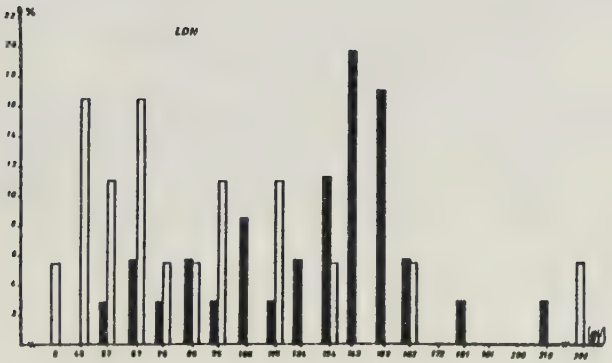
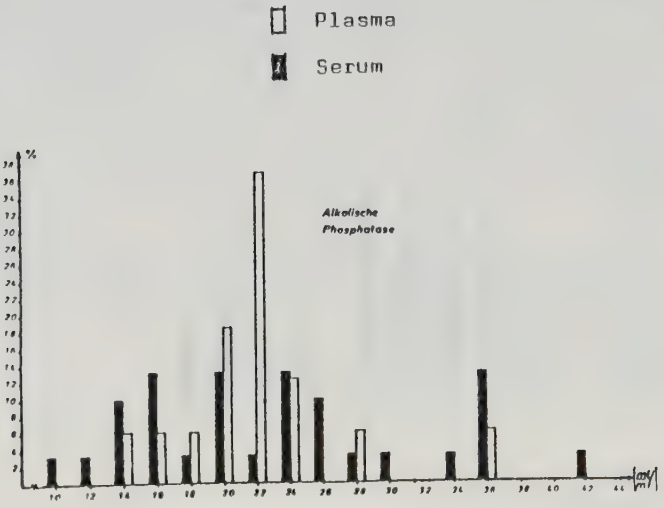


Abb. 9



Eine weitere Vergleichsmöglichkeit zwischen den in Serum und Plasma gemessenen Enzymaktivitäten ist die Gegenüberstellung der Mittelwerte, die bei der Bestimmung der Normbereiche in Serum und Plasma errechnet wurden.

Tabelle 17 Gegenüberstellung der Mittelwerte der Messungen in Serum und Plasma.

	GOT	GPT	LDH	LAP	AP	SP
Serum	13,4	14,6	129,8	22,8	23,3	30,2
Plasma	10,7	12,7	80,9	30,2	20,6	29,9
Differenz in Prozent	-20,2	-13,0	-30,7	+32,5	-11,6	- 1

Bei der Ermittlung der prozentualen Differenz wurde der Serumwert mit 100 % festgesetzt. Der entsprechende Plasmawert ist bei negativem Vorzeichen um den angegebenen Prozentsatz geringer, bei positivem höher. Auch bei diesem, im Gegensatz zum Nebenversuch b (Tab. 9), indirekten Vergleich liegen die in Plasma gemessenen Enzymaktivitäten unter den im Serum gemessenen.
Abschließend sollen die prozentualen Differenzen aus Tabelle 9 und Tabelle 17 nebeneinandergestellt werden. Mit zwei verschiedenen Verfahren wurde ein prozentualer Unterschied zwischen den Meßergebnissen in Serum und Plasma ermittelt. Im Nebenversuch b) wurden sechs Blutproben halbiert, davon jeweils eine Hälfte mit Heparin versetzt und ein Mittelwert dieser Einzelergebnisse gebildet und "direkter Vergleich" genannt. Daneben wurden in einem sogenannten "indirekten Vergleich" aus den Mittelwerten vieler Messungen, die zu unterschiedlichen Zeiten am Blut vieler Tiere durchgeführt worden waren wiederum die prozentualen Unterschiede zwischen Serum- und Plasmawerten errechnet. Eine Gegenüberstellung orgibt für drei Enzyme ähnlich hohe Differenzwerte.

Tabelle 18 Gegenüberstellung der prozentualen Unterschiede bei der Messung von Enzymaktivitäten in Serum und Plasma bei direktem und indirektem Vergleich.

	GOT	GPT	LDH	LAP	AP	SP
direkt	-24,7	+11,7	-36,0	+14,3	-10,9	-29,9
indirekt	-20,2	-13,0	-30,7	+32,5	-11,6	- 1

4. Hauptversuche

Nach den auf Seite 6 unter II 4., 5. und 6. d beschriebenen Verfahren wurden mit jeder Bakterienart zwei Versuche (mit ß-hämolysierenden Streptokokken drei Versuche) durchgeführt. Die Ergebnisse wurden gemittelt. Im Blutplasma der Tiere wurden nach Injektion der einzelnen Mikroorganismen die in den Tabellen 19 bis 24 angegebenen Enzymaktivitäten gemessen.

Tabelle 19

ß-hämolysierende Streptokokken

Zeit	0	24 h	48 h	72 h
GOT	8,33	7,33	9,66	9
GPT	14	13,33	16,33	15,66
LDH	83	73	89	89
LAP	36,66	32,66	56	36,66
AP	22	17,66	14,33	14
SP	25,23	24,43	22,73	25,9
G6P-DH	1,66	3	5,33	11,5

Tabelle 20

vergrünende Streptokokken

Zeit	0	24 h	48 h	72 h
GOT	10	31,15	11	7
GPT	10	14,5	19	14,5
LDH	81	114,5	85,5	81
LAP	24,5	26	19,5	19,5
AP	16	26,5	23	23
SP	34,35	35,85	32,3	32,8
G6P-DH	0	0	0	3,5

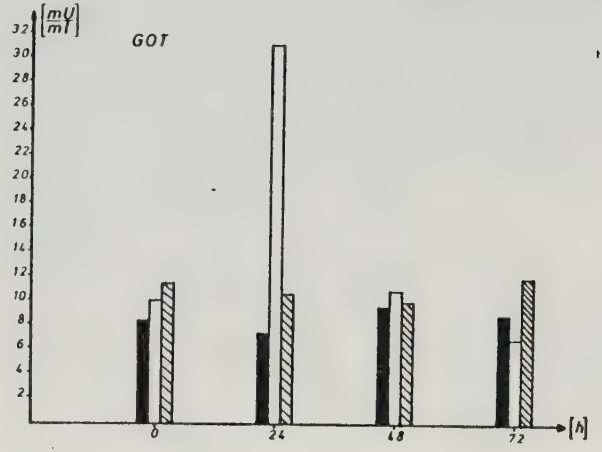
Tabelle 21

Staphylococcus aureus

Zeit	0	24 h	48 h	72 h
GOT	11,5	13,5	10	12
GPT	14,5	13,5	11	10
LDH	81,5	57,5	52,5	114,5
LAP	32	92	26	24,5
AP	24	41	17,5	14
SP	29,8	39,35	41,9	25,75
G6P-DH	0	3,5	0,5	0

In den Abbildungen 10 bis 21 sind für die einzelnen Enzyme die in den Tabellen 19 bis 24 aufgeführten Enzymaktivitäten dargestellt, die im Verlaufe eines Versuches nach Injektion der jeweiligen Bakterienart gemessen worden waren.

Abb. 10



ß-hämolysierende Streptokokken

vergrünende Streptokokken

Staphylococcus aureus

Abb. 11

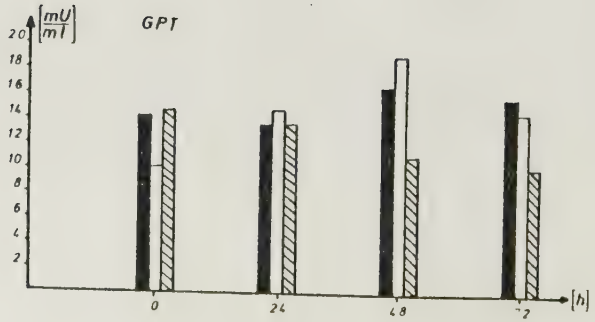
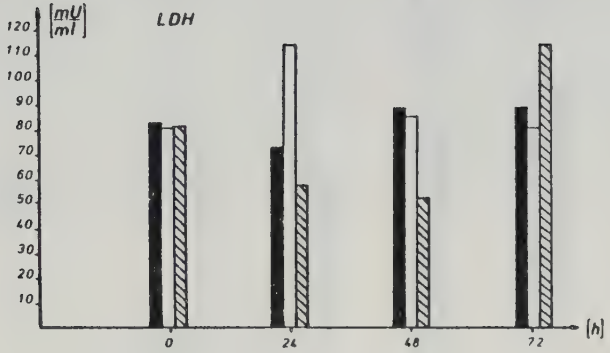


Abb. 12



β-hämolysierende Streptokokken

vergrünende Streptokokken

Staphylococcus aureus

Abb. 13

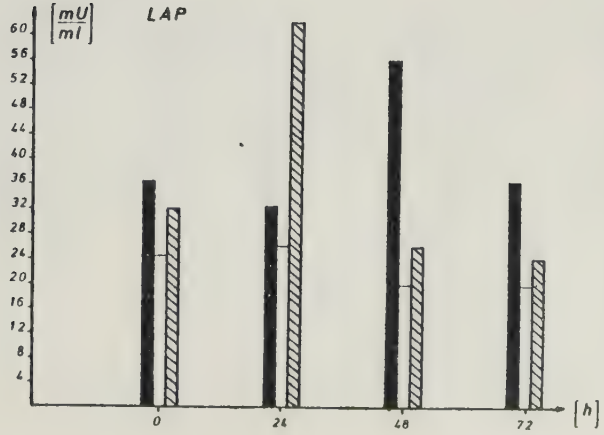
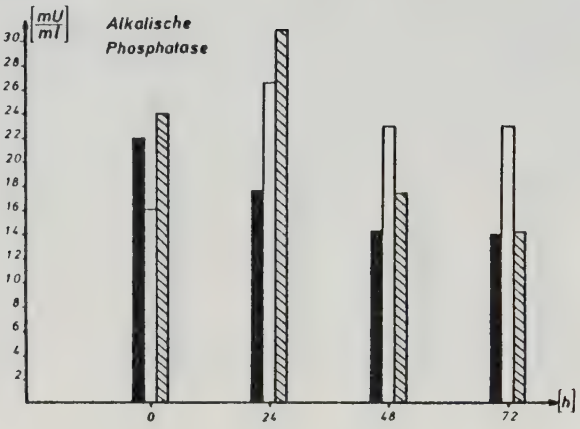


Abb. 14



β-hämolysierende Streptokokken
vergrünende Streptokokken
Staphylococcus aureus

Abb. 15

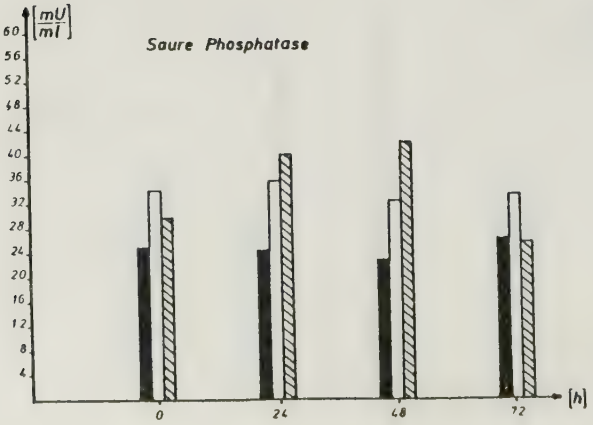


Tabelle 22

Escherichia coli

Zeit	0	24 h	48 h	72 h
GOT	12,5	21	6,5	4,5
GPT	9	14,5	10	9,5
LDH	66,5	114,5	33,5	33,5
LAP	27,5	368	42	22,5
AP	23	36	28	25
SP	32,3	50,2	37,9	44,5
G6P-DH	1	5,5	3,5	2

Tabelle 23

Pseudomonas aeruginosa

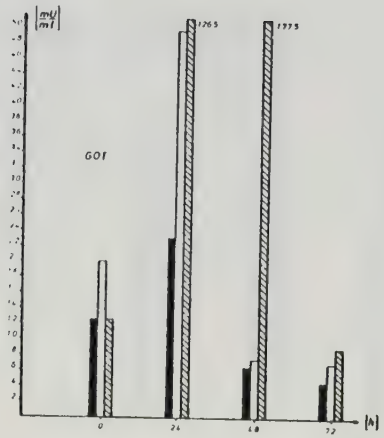
Zeit	0	24 h	48 h	72 h
GOT	20	49,5	7,5	7
GPT	16,5	15,5	10	9
LDH	114,5	90,5	152,5	48
LAP	42	365,5	284	23
AP	23	14,5	53	14
SP	44,4	38,4	60,65	53,5
G6P-DH	2	6	4,5	0

Tabelle 24

Klebsiella pneumoniae

Zeit	0	24 h	48 h	72 h
GOT	12,5	126,5	177,5	9
GPT	15,5	84	92	22
LDH	124	219,5	386,5	86
LAP	22,5	663	154	97
AP	29	23,5	22,5	23
SP	30,8	31,8	32,1	39,4
G6P-DH	0,5	6	5,5	7

Abb. 16



E. coli
Pseudomonas aeruginosa
Klebs. pneum. Friedländer

Abb. 17

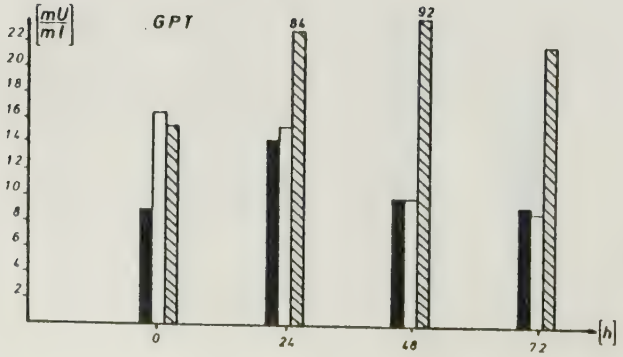
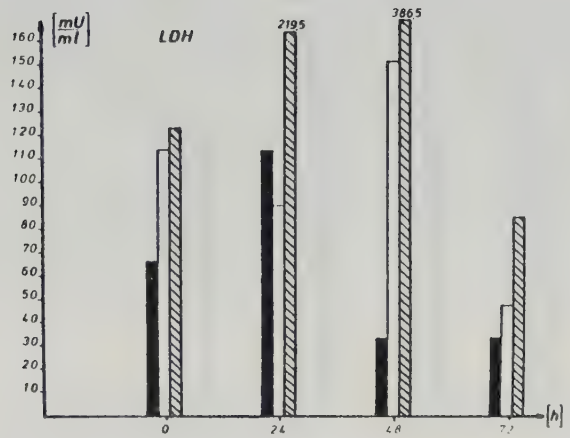


Abb. 18



E. coli

Pseudomonas aeruginosa

Klebs. pneum. Friedländer

Abb. 19

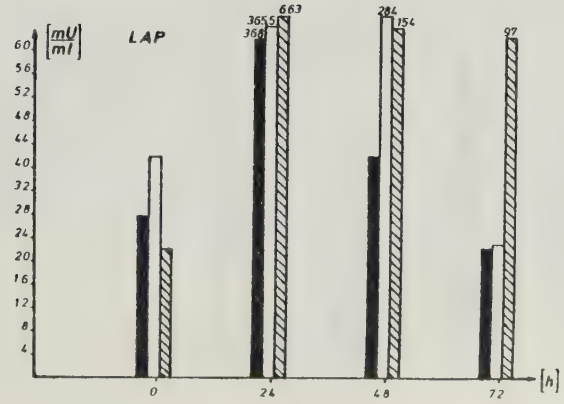
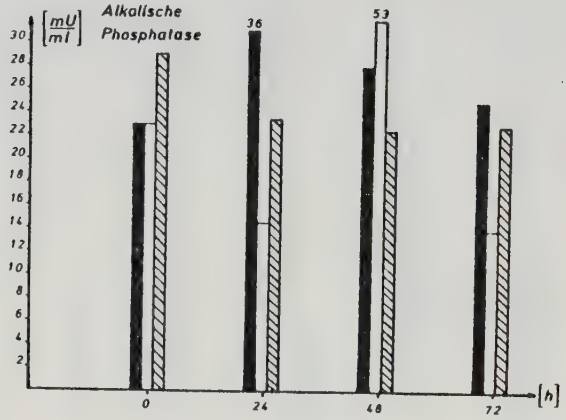


Abb. 20

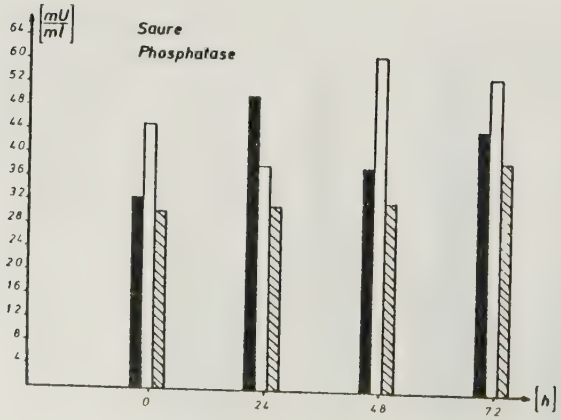


E. coli

Pseudomonas aeruginosa

Klebs. pneum. Friedländer

Abb. 21



Zusammengefaßt zeigen die Ergebnisse der Hauptversuche (Tabellen 19 bis 24), daß ß-hämolysierende Streptokokken in der auf Seite angegebenen Menge einmal appliziert zu keinen nennenswerten Änderungen im Enzymmuster führen. Lediglich der 48 h Wert der Leucin-Aminopeptidase überschreitet knapp den 2s-Bereich, die Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase nimmt mit der Versuchsdauer zu. Auf vergrünende Streptokokken reagierten die Tiere mit einer frühen einmaligen Erhöhung der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase ohne weitere Veränderungen. Staphylococcus aureus führte zu einer Erhöhung der Leucin-Aminopeptidase bei gleichzeitig grenzwertiger alkalischen Phosphatase. Einen Tag nach Injektion des Escherichia coli Stammes O 119 kam es zu einem deutlichen Anstieg der beiden sogenannten Cholostaseenzyme begleitet von einem leichten Anstieg der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase und der Sauren Phosphatase. Die Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase erreicht nach 24 h einen Gipfel, der sich in den folgenden Tagen zurückbildet. Bei den mit Pseudomonas aeruginosa infizierten Tieren konnte nach 24 h eine kurzfristige Zunahme der Aktivität der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase beobachtet werden. Die Leucin-Aminopeptidase blieb zwei Tage stark erhöht, die Lactat-Dehydrogenase lag am zweiten Tag im oberen Normbereich. Die Werte der sauren Phosphatase überstiegen am zweiten und dritten Tag knapp den Normwert, der 48 h Wert der alkalischen Phosphatase war deutlich erhöht. Die Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase zeigte einen ähnlichen Verlauf wie nach der Coli Bakteriämie. Die deutlichsten Enzymveränderungen konnten nach Inokulation von Klebsiella pneumoniae gemessen werden. Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, Glutamat-Pyruvat-Transaminase, Lactat-Dehydrogenase und Leucin-Aminopeptidase waren signifikant erhöht, dagegen lagen die Phosphatasen im Normbereich. Der Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenaseanstieg blieb konstant.

IV Diskussion

1. Blutentnahmeverfahren und Behandlung der Proben

Neben der kritischen Beurteilung der Meßtechnik und der angewendeten Methoden muß bei der Bestimmung von Serumenzymaktivitäten immer wieder gefragt werden, ob die festgestellten Aktivitäten auch dem tatsächlichen Serumspiegel in vivo entsprechen. Wichtigste In-Vitro-Fehlerquelle für zu hohe Ergebnisse sind die Enzyme zerstörter korpuskulärer Blutbestandteile. Daneben sind Blutentnahmetechnik und weitere Verarbeitung der Proben wesentliche Fehlerquellen. In der Literatur (40)wird die Entnahme mit einer Kanüle aus der ungestauten Vene gefordert. Dies ließ sich in den eigenen Versuchen wegen der meist zu geringen Gefäßdurchmesser nicht durchführen. Herzpunktionen an vier aufeinanderfolgenden Tagen erschienen nicht zweckmäßig. Ebenso brachte das Absaugen des Blutes mit einer Glasglocke nach Einschneiden des Ohres nur unbrauchbare Seren. Daher wurde das ebenfalls nicht ganz befriedigende Verfahren gewählt, die Vene mit einem Skalpell anzuritzen und das ablaufende Blut in Zentrifugenröhrchen aufzufangen.

Ursache für zu niedrige Ergebnisse sind im wesentlichen Faktoren, die zur Inaktivierung von Enzymen führen. Hierfür kommen in Betracht verunreinigte Gefäße, Wärmeeinflüsse und die Zeitspannen, die von der Blutentnahme bis zur Messung verstreichen. Um mögliche Detergentienreste zu entfernen, wurden die zur Blutentnahme benutzten Röhrchen nach den Angaben von ZUCKER and BORELLI (53) behandelt (s. II 6. d). Eine nicht benetzbare Oberfläche wurde durch Silikonöl geschaffen (7, 32, 53).

Die Lagerfähigkeit von Serumproben für Enzymbestimmungen wurde in Frage gestellt, nachdem 1960 SÜDHOF u. WÖTZEL (49) nach bis zu 48-stündiger Lagerung erhebliche Aktivitätsverluste gefunden hatten. Jedoch konnten Ellen und F. W. SCHMIDT (43) sowie ARONSON et al. (3) zeigen, daß bei sauberen, detergentienfreien Gefäßen und Lagertemperaturen um $4^{o}C$ in den ersten drei Tagen nur geringe Aktivitätsverluste auftreten.

2. Normalwerte im Kaninchenserum

Werden die von verschiedenen Untersuchern im Blutserum der gleichen Tierspezies gemessenen Enzymaktivitäten verglichen, werden teilweise erhebliche Unterschiede gefunden. Zum Vergleich mit den eigenen Ergebnissen werden die Arbeiten von GRÖTSCH und HADJU (15, 16) und METHFESSEL und DEML (32) herangezogen. Während beide Arbeitsgruppen für die Glutamat-Pyruvat-Transaminase ähnliche Ergebnisse erhielten (GRÖTSCH und HADJU: 6 - 20 IE/l bei n = 19; METHFESSEL u. DEML: 11,8 - 17,2 IE/l) bestehen bei der Bestimmung der Lactat-Dehydrogenase deutliche Differenzen (GRÖTSCH u. HADJU: 100 - 450 IE/l bei n = 16; METHFESSEL u. DEML: 34 - 54,8 IE/l bei n = 28). GRÖTSCH und HADJU benutzten die Methode nach WROBLEWSKI (51), während METHFESSEL u. DEML nach der von HORN und AMELUNG (23) arbeiteten. Auch bei der alkalischen Phosphatase differieren die Angaben bei gleicher Methodik erheblich (Grötsch und HADJU: 30 - 106 IE/l bei n = 32; METHFESSEL u. DEML: 1,3 - 13,9 IE/l bei n = 31), wobei GRÖTSCH und HADJU diese Ergebnisse ausdrücklich nicht als Normalwerte bezeichnen. Von den gleichen Autoren liegen weitere Angaben über die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (2 - 15 IE/l bei n = 19) und die Leucin-Aminopeptidase (17 - 30 IE/l

bei n = 14) vor. Da GRÖTSCH und HADJU für die Handbestimmungen die gleichen Methoden und Testsätze desselben Herstellers verwandte wie sie bei den eigenen Versuchen benutzt wurden, scheint ein Vergleich mit seinen Ergebnissen am sinnvollsten. Bis auf die Lactat-Dehydrogenase, deren Streubreite geringer war (Tabelle 3) stimmen die in den Tabellen 1 bis 7 wiedergegebenen Ergebnisse mit den zitierten Angaben von GRÖTSCH und HADJU im wesentlichen überein.

3. Vergleich der Meßergebnisse von Serum- und Plasmaproben

Da bei der Gerinnung zelluläre Blutbestandteile zerstört werden, empfiehlt es sich den Proben Antikoagulantien zuzusetzen. Von zahlreichen Autoren (32, 53, 54, 39, 23) wurden zur Plasmagewinnung verschiedene gerinnungshemmende Substanzen benutzt und auch tabellarisch gegenübergestellt (53). Bei den eigenen Untersuchungen wurde Heparin als Antikoagulans verwendet. METHFESSEL und DEML haben diesen Gerinnungshemmstoff für Blutproben thrombocytenreicher Tierarten vorgeschlagen. Die im Ergebnisteil in den Tabellen 9, 17 und 18 aufgeführten Vergleiche zwischen den in Serum und Plasma gemessenen Enzymaktivitäten zeigen, daß mit Ausnahme der Leucin-Aminopeptidase die Plasmawerte niedriger sind als die zugehörigen Serumwerte. Ähnliche Differenzen wurden bei Untersuchungen mit menschlichem Blutserum und Blutplasma ermittelt (47). SOLBACH et al (48) errechneten für die verschiedenen Enzyme die Mittelwerte der Einzelmessungen in Serum und Plasma. Dabei lagen die im Serum gemessenen Enzymaktivitäten bei der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase um 20 %, bei der Glutamat-Pyruvat-Transaminase um 17 %, bei der Lactat-Dehydrogenase um 40 % und bei der alkalischen

Phosphatase um 24 % niedriger als die im Plasma gemessenen. Erklärt wird diese Differenz durch die Enzyme, die unter der Gerinnung bei der Erythrocytolyse und Thrombocytolyse frei werden.

4. Einfluß der Hämolyse auf die Meßergebnisse

Einen Eindruck von der bei Erythrocytolyse frei werdenden Enzyme vermitteln die von RICHTERICH (40) stammenden und in der Tabelle 25 wiedergegebenen Konzentrationsunterschiede zwischen menschlichen Erythrocyten und Plasma für vier Enzyme.

Tabelle 25: Konzentrationen und Verhältnis Erythrozyt zu Plasma für vier Enzyme (aus RICHTERICH: Klinische Chemie)

	Ery	Plasma	Ery/Plasma
LDH (Einh.)	58.000	360	160
SP	200	3	67
GOT	31,5	0,8	40
GPT	1,6	0,24	22,7

Der 160fach größere Gehalt der roten Blutkörperchen an Lactat-Dehydrogenase erklärt die höhere Aktivität dieses Enzyms in hämolytischen Seren. Die Ergebnisse der Versuche III 2a. (Tabelle 8) zeigen, daß sich die Aktivität der Lactat-Dehydrogenase in den vier Fraktionen einer Probe ähnlich verhält wie die Konzentration des Hämoglobins. Der im Unterschied zum Plasma nur 40fach beziehungsweise 22, 7fach höhere und quantitativ geringere Gehalt der Erythrozyten an Glutamat-Oxalacetat-Transaminase bzw. Glutamat-Pyruvat-Transaminase macht den geringeren Unterschied zwischen hämolytischen und nicht hämolytischen Seren bei diesen Enzymen verständlich. Durch die bei der

Gerinnung auftretende Mikrohämolyse (26) werden weniger Enzymmoleküle in das Serum freigegeben. Für einige Enzyme (Phospho-Gluco-Isomerase, Triosephosphat-Isomerase, Malat-Dehydrogenase) konnten Korrelationen zwischen dem Serum-Hämoglobin und der Enzymaktivität nachgewiesen werden, für die Lactat-Dehydrogenase jedoch nicht (26). Der bei Kaninchen aus 29 Wertepaaren ermittelte Korrelationskoeffizient von 0,745 läßt die Annahme zu, daß bei hämolytischen Seren die direkte Abhängigkeit zwischen Serum-Hämoglobin und der Aktivität der Lactat-Dehydrogenase besteht. Sie kommt durch die auf Seite 19 angegebene Formel der Regressionsgeraden zum Ausdruck. Wird hierin $x = 0$ gesetzt, soll also kein Hämoglobin im Serum sein, ergibt sich für dieses Kaninchenkollektiv ein theoretischer "idealer" Normalwert von 65,31 U/l.

5. Beeinträchtigung der Meßergebnisse durch Thrombozytolyse

Verschiedene Autoren (17, 54) konnten zeigen, daß normale Thrombozyten einen reichhaltigen Enzymbesatz haben, so unter anderem alle Enzyme der Glykolyse, des Pentosephosphat- und des Citratcyclus sowie der Atemkette. Daher ist durch die Thrombozytolyse bei der Blutgerinnung im Serum ein, dem Plasma gegenüber, veränderter Enzymgehalt festzustellen. Diese Unterschiede werden auch durch die Thrombozytenzahl beeinflußt. Für Kaninchen finden sich in der Literatur Höchstwerte bis 1040000 Thrombocyten /ul. Nach COHR, JAFFE und MEESEN (8) stammen die zuverlässigsten Angaben von Schermer. Danach sind bis 454700 Thrombocyten /ul normal. METHFESSEL u. DEML (32) geben 500.000 Thrombocyten /ul an.

Signifikant beeinflußt werden die Ergebnisse der sauren Phosphatasen. Bereits 1958 konnte gezeigt werden (53), daß mittels unterschiedlich schneller Zentrifugation hergestellte thrombozytenarme und thrombozytenreiche Plasmen nur unwesentliche Aktivitätsunterschiede für die Lactat-Dehydrogenase, Glutamat-Oxalacetat-Transaminase und Glutamat-Pyruvat-Transaminase aufweisen. Für die saure Phosphatase dagegen, gemessen mit Glycerophosphat als Substrat, konnten im thrombozytenreichen Plasma deutlich höhere Aktivitäten gemessen werden als in thrombocytenarmen. Mit dem in den eigenen Untersuchungen verwendeten Substrat p-Nitrophenylphosphat wurde dies ebenfalls von verschiedenen Autoren nachgewiesen (53, 39, 7, 24). Da nur die gesamte saure Phosphatase bestimmt wurde und auf eine Typisierung verzichtet wurde, können über die Ursache der gemessenen hohen Aktivitäten nur Vermutungen angestellt werden. So ist es möglich, daß Kaninchen höhere Normwerte für die sauren Phosphatasen haben. Daneben kann die höhere Thrombozytenzahl durch die bei Thrombozytolyse quantitativ vermehrt freiwerdenden Enzyme Ursache sein. Dies dürfte jedoch nur für die Serumwerte gelten, die nahezu gleichhohe Aktivität im Plasma ist damit nicht erklärt.

In die Überlegungen über die potentiellen Fehlerquellen muß das Blutentnahmeverfahren einbezogen werden. Nach LÜSCHER (31) genügt das Silikonisieren der Gefäße nicht, um eine Thrombozytolyse zu verhindern, wenn "die Beimischung von Gewebssäften" nicht vermieden wird. Dies ist aber nur bei Entnahme mit der Kanüle möglich, dabei sollten dann noch die ersten Tropfen verworfen werden.

Das hier angewandte Verfahren kann ein Einwirken der Gewebsthrombokinase nicht verhindern. Thrombozyten werden zerstört und somit kann ein thrombozytärer Anteil an der Gesamtaktivität der sauren Phosphatase nicht vermieden werden.

6. Pathogenität der benutzten Erreger

Kommt es in einem Organismus zu einer Bakteriämie, im Rahmen eines Krankheitsgeschehens oder artefiziell, so hängen ohne therapeutische Beeinflußung Dauer und Auswirkung dieses Geschehens sowohl vom Erreger als auch vom befallenen Individuum ab. Auf der Seite des Wirtes ist die Funktionstüchtigkeit der körpereigenen Abwehr entscheidend. Der Erreger andererseits muß für die infizierte Spezies pathogen sein, eine ausreichend hohe Virulenz haben und in genügend großer Menge vorhanden sein. In der Standardliteratur über Kleintiere sind für Kaninchen eine Reihe schwerer septicämischer Krankheitsbilder beschrieben. Dabei werden andere als die hier verwandten Erreger genannt. Bereits im älteren Schrifttum sind Septicämien bei Kaninchen beschrieben worden. EBERTH und MANDRY (8) nannten den 1890 von ihnen gefundenen Erreger "Bacillus cuniculicida mobilis". 1903 isolierte CATTERINA (8) bei einer Kaninchensepticämie, bei der er einen für Kaninchen sehr pathogenen grampositiven, unbeweglichen Streptokokkenstamm fand.

Neben der Pathogenität und der Virulenz ist entscheidend, ob eine Bakteriämie ein einmaliges Ereignis ist, oder aus einem chronischen Entzündungsherd permanent Bakterien in die Blutbahn gelangen. Demtentsprechend

sind bei der vorliegenden Versuchsanordnung von der kurzfristigen Bakteriämie gering virulenter Erreger bis zum akuten septischen Krankheitsbild alle Zwischenstufen möglich und auch beobachtet worden. So mußte die zunächst inokulierte Menge von Klebsiella pneumoniae deutlich reduziert werden, nachdem mehrere Tiere bereits nach 24 h eingegangen waren.

7. Enzymaktivitäten nach Inokulation von Bakterien

Erwartungsgemäß zeigen die Mittelwerte der gemessenen Enzymaktivitäten ein Spektrum von unwesentlichen Schwankungen im Normwertbereich bis hin zu deutlichen Aktivitätszunahmen. Hierbei sind allgemein die Enzymveränderungen nach Inokulation von grampositiven Kokken geringer als nach gramnegativen Stäbchenbakterien. Eine Interpretation der gemessenen Enzymveränderungen ist nur begrenzt möglich. Da nur je zwei Tiere mit der gleichen Bakterienart inokuliert wurden, sind Aussagen über die Signifikanz der Versuche nicht möglich. Auffällig sind die nach Inokulation von Staphylococcus aureus und Escherichia coli aufgetretenen gleichzeitigen Anstiege der Leucin-Aminopeptidase und der alkalischen Phosphatase. Sie lassen an eine intrahepatische Gallestauung ebenso wie an eine Cholangitis - Cholangiolitis denken. Die übrigen Veränderungen, insbesondere der Transaminasenanstieg nach Inokulation von Klebsiellen, sind am ehesten als Begleitreaktion der Leber auf ein akut septisches Krankheitsgeschehen zu interpretieren. In diesem Sinne äußern sich auch Ellen und F. W. SCHMIDT, die bei schweren Allgemeinerkrankungen und chronisch eitrigen Prozessen Mitreaktionen der Leber in Form einer toxischen Hepatose beschreiben (45). Neben dem Morbus

Pfeiffer wird in diesem Zusammenhang besonders die Leptospirose erwähnt. Bei vier an Morbus Weil erkrankten Patienten wurde ein im Vergleich zum Bilirubin verzögerter aber relativ hoher Gipfel der Transaminasen bei nur gering veränderter alkalischer Phosphatase nachgewiesen. Die zu granulomatösen Hepatitiden führenden Infektionen zeigen nur geringe Enzymveränderungen. Nach intraperitonealer Inokulation von Staphylococcus aureus fand SMITH (46) bei Mäusen einen Anstieg der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase und der sauren Phosphatase.

8. Überlegungen zur Entstehung der gemessenen Enzymveränderungen

Noch 1957 deuteten HAUSS und LEPPELMANN wiederholt (20, 21) Enzymveränderungen nach Herzinfarkt, nach schweren akuten Infektionen und im postoperativen Zustand als unspezifische Allgemeinreaktion. Sie stellten sie in eine Reihe neben Fieber, Leukocytose und Erhöhung der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit. Ellen SCHMIDT widersprach 1962 dieser Interpretation, ebenso wie sie eine starre "kritiklose Zahlengläubigkeit" ablehnt (42). Sie zeigt vielmehr, daß organspezifische Enzymmuster im Serum gefunden werden können, aus denen auf das geschädigte Gewebe und den Grad der Schädigung geschlossen werden kann. MOLANDER et al. haben im Umkehrschluß in der Serumaktivität der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase ein Maß für die hepatozelluläre Integrität gesehen (33). Unter Berücksichtigung der physiologischen Funktionen der untersuchten Enzyme muß bei Aktivitätserhöhung im Serum zunächst an eine Freisetzung aus Stoffwechselaktiven Organen gedacht werden. Bei der gewählten Ver-

suchsanordnung sind osteolytische Knochenerkrankungen, ein Prostatakarzinom oder umfangreiche Muskelnekrosen nicht zu erwarten. Eine Beteiligung der Leber dagegen ist wegen der oben geforderten Eigenschaften einerseits und ihrer unmittelbaren Beteiligung an der Elimination von Bakterien und ihrer Stoffwechselprodukte durch das retikulo-endotheliale System andererseits wahrscheinlich. Ellen u. F. W. SCHMIDT (42) sehen ebenfalls in der Leber die Quelle der Aktivitätsvermehrung von Serumenzymen. Ob bakterielle Toxine auch bei der vorliegenden Untersuchung eine Rolle spielen können, wie dies für verschiedene Enteritisformen, Diphtherie, Tetanus, Botulismus und Waterhouse-Friedrichsen Syndrom anzunehmen ist, muß zumindest diskutiert werden. Eine bestimmte Menge Endotoxin, von Bakterien der Darmflora stammend, findet sich nach Resorption immer im Blut. Vergleichsmessungen von Proben aus Pfortader und Vena cava bei Kaninchen haben gezeigt, daß ein intaktes retikulo-endotheliales System, hauptsächlich Leber und Milz, etwa 80 % der anfallenden Giftmenge eliminieren (14). Bei normalen Tieren werden nicht tödliche Dosen zu etwa 50 % rasch aus dem Kreislauf entfernt, bei immunen Tieren sogar 90 % (12). Die durch Proteinbindung entgifteten Endotoxine werden mit dem Urin ausgeschieden. BRAUDE (6) fand mit radioaktiv markierten Endotoxinen bei Kaninchen einen Abfall der Radioaktivität des Serums bei normalen Tieren von 40 % nach fünf und von 50 % nach fünfzehn Minuten. Bei bereits Immunen betrug die Radioaktivitätsabnahme nach fünf Minuten über 90 %. Dagegen konnten mit Cr^{51} markierten Escherichia coli Endotoxinen in der Leber noch nach 60 Tagen nachgewiesen werden.

Die ersten Untersuchungen über die Giftwirkung von Bakterien erschienen um die Jahrhundertwende. 1906 injezierten KRAUSS und PRIBRAM (28) Kaninchen hohe Dosen von Staphylokokkentoxinen; die Tiere starben innerhalb von fünf bis dreißig Minuten. Durch Gaben von Serum immunisierter Ziegen konnte der Tod verhindert werden. SANDRITTER und HEYMANN untersuchten 1953 (41) die Wirkung großer und akut tödlich wirkender Giftmengen bei mehreren Versuchstierarten, unter anderem auch verschiedene Toxine und Endotoxine. Dabei fanden sie eine "unspezifische Wirkung auf den Blutkreislauf mit morphologisch fassbaren Veränderungen im Sinne einer hämorrhagischen bzw. hämorrhagisch-nekrotischen Enteritis". Eine zentral angreifende Kreislaufwirkung ist wahrscheinlich. Versuche mit subletalen Toxindosen ergaben bei Kaninchen einen Blutzuckeranstieg ohne kritische Glykogenverminderung. Bei den meisten Versuchstieren wurden Azidose, Katecholaminanstieg, Lactat-, Kalium- und Harnstoffanstieg sowie Erhöhung der Transaminasen und Dehydrogenaseaktivität festgestellt (12). Weitere Untersuchungen über den Einfluß von Bakterien auf Stoffwechselvorgänge des Wirts liegen von GUCKIAN (18) vor. Bei Diplococcus -pneumoniae-Bakteriämien bei neuseeländischen Albinokaninchen wurden zehn Veränderungen im Metabolismus, hauptsächlich der Kohlenhydrate gefunden. Daneben war die Triglyceridsynthese in der Leber erhöht und die freien Aminosäuren in Plasma, Muskel und Leber vermehrt.

Zusammenfassend kann also festgestellt werden, daß bakterielle Gifte durch das RES schnell aufgenommen werden und in der Leber noch lange Zeit nachgewiesen werden können. Wenn die Dosierung nicht zu hoch ist,

es also zu keinen tödlichen Schockzuständen kommt, können Toxine bei Versuchstieren Stoffwechselprozesse beeinflussen. Bei den häufig vorkommenden subklinischen Bakteriämien und durch die von der eigenen Darmflora stammenden Endotoxine ist eine derartige Wirkung mit großer Wahrscheinlichkeit zu vernachlässigen. Ob die in den eigenen Versuchen benutzten Bakterienarten bei einer Erkrankung des Menschen auch zu einer Leberschädigung führen können, soll anhand einiger Beispiele beantwortet werden.

Von den durch Streptokokken hervorgerufenen Erkrankungen sollen das Erysipel und der Scharlach erwähnt werden. Bei schwerem Verlauf, besonders beim Nabelerysipel der Kleinkinder wurden Hepatitiden beschrieben. Von ACHALME (1) wurden bei tödlichen Verläufen immer entzündliche Leberschädigungen gefunden.

Bei der Initialtoxikose des Scharlach kann die Leber leicht geschwollen und druckempfindlich sein. Subikterus, Urobilin- und Urobilinogenurie sind möglich. Über schwere Ikterusfälle ist ebenso berichtet worden, wie über die Verschlimmerung bereits bestehender Lebererkrankungen.

Bei der Staphylokokkensepsis kann ein Ikterus auftreten, der selten nur rein hämolytisch bedingt ist, häufiger dagegen durch Pericholangitiden. Auch Escherichia coli ruft besonders durch Stenosen oder Verschlüssen entzündliche Veränderungen der Gallenwege hervor.

Nachdem den vorher zitierten Versuchen einige klinische Beobachtungen hinzugefügt werden konnten, scheint

die Vermutung nicht unbegründet, daß die beobachteten Veränderungen der Serumenzymaktivitäten in ursächlichem Zusammenhang mit der Inokulation von Bakterien stehen.
Die Enzymerhöhungen können im Sinne einer Begleitreaktion der Leber bei infektiös-toxischen Zuständen interpretiert werden.

V Zusammenfassung

Mit kommerziellen Testsätzen wurden beim Kaninchen getrennt Serum- und Plasmaaktivitäten von 7 Enzymen bestimmt, deren Normbereiche ermittelt und miteinander verglichen. Hierbei lagen mit Ausnahme der Leucin-Aminopeptidase die Enzymaktivitäten im Plasma bis zu 30 % unter den im Serum gemessenen.
In weiteren Versuchen wurden Blutproben geteilt und simultan die Serum- und Plasmaaktivitäten sowie der Serumhämoglobingehalt bestimmt und einander gegenübergestellt. Dabei waren die prozentualen Unterschiede von Serum- und Plasmawerten in einer ähnlichen Größenordnung wie beim Vergleich der Normbereiche.
Zusätzlich wurden die Serumaktivitäten der Lactatdehydrogenase und der sauren Phosphatase mit dem Serumhämoglobingehalt in Beziehung gesetzt. Die Aktivität der Serum-Lactatdehydrogenase wird durch die Lactatdehydrogenase beeinflußt, die bei Hämolyse frei wird. Für die saure Phosphatase im Serum konnte eine ähnliche Relation nicht nachgewiesen werden, da für die aus Thrombocyten freigesetzte saure Phosphatase kein Parameter bestimmt wurde.

Nach Inokulation von ß-hämolysierenden Streptokokken, vergrünenden Streptokokken, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa und Klebsiella pneumoniae in die Ohrvene der Kaninchen wurden über jeweils drei Tage die Plasmaaktivitäten von sieben Enzymen untersucht. Hierbei waren die Enzymveränderungen nach Applikation von grampositiven Kokken geringer als die nach Gabe von gramnegativen Stäbchenbakterien.

Literaturverzeichnis

1 ACHALME, P. zitiert nach GSELL, MOHR: "Infektionskrankheiten".
Springer Verlag Berlin, Heidelberg New York
1968 Band II/1 S. 25

2 ANDERSCH, M., et al: Methode zur Bestimmung der Sauren Phosphatase.
Amer. J. clin. Path. 17, S. 571 (1947)

3 ARONSON, K.F., HANSON, A. und NOSSLIN, B.: The Value of Glutamyl-Transpeptidase in Differentiating Viral Hepatitis from Obstructiv Jaundice.
Acta Chir. Scand. 130 S. 92 - 99 (1965)

4 AXLINE, S.G.: Isoenzymes of Acid Phosphatase in Normal and Calmett-Gurein-Bacillus in Duced Rabbit Alveolar Macrophages.
J. exp. Med. 128 S. 1031-1048 (1968)

5 BESSEY, O.A., et al: Methode zur Bestimmung der Alkalischen Phosphatase.
J. bio. Chem. 164 S. 321 (1946)

6 BRAUDE, A.J.: Absorption, Distribution and Elimination of Endotoxins and their Derivatires.
Bacterial Endotoxins S. 98 - 106
Proceedings of a Symposium Held at the Institut of Microbiology of Rutgers New Brunswick 1964

7 BRUHN, H.D. und KELLER, H.: Vergleichende Untersuchung zur Bestimmung der Sauren Prostata-Phosphatase.
DMW 52 S. 2335 - 2339

8 COHRS, JAFFE, MEESEN: Pathologie der Laboratoriumstiere. Band I Blutentnahme bei Kaninchen S. 177,
Thrombozytenzahl bei Kaninchen S. 184
Band II Sonstige Septicämien S. 6
Springer Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg
1. Auflage 1958

9 EISENBURG, J.: Diagnostische Interpretation von Serumenzymveränderungen bei Lebererkrankungen.
I Grundlagen der Enzymdiagnostik.
Fortschritte der Medizin 86 S. 849 - 852 (1968)

10 EISENBURG, J.: Diagnostische Interpretation von Serumenzymveränderungen bei Lebererkrankungen. II Diagnostisch gebräuchliche Enzyme. Fortschritte der Medizin 86 S. 903 - 908 (1968)

11 FISHMAN, W.H., et al: Methode zur Bestimmung der Sauren Phosphatase. J. biol. Chem. 200 S. 89 (1953)

12 GÖING, H., KAISER, P.: Toxikologie bakterieller Endotoxine, aus: GRUMBACH, KIKUTH: Die Infektionskrankheiten des Menschen und ihre Erreger. Thieme Verlag Stuttgart Auflage

13 GREEN, M.N., TSON, K.C., BRESSLER, R. und SELIGMANN, A.M.: The Cologimetric Determination of Leucinaminopeptidase octirity with L-Leucin-Beta-Naphthylamide Hydrochlorid. Arch. Biochem. 57 S. 458 - 465 (1955)

14 GREENE, F., WIZNITZER, T., RUTENBURG, S., FRANK, E. und FINE, J.: Hepatic clearance of Endotoxine Absorbed from Intestine. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 108 S. 261 - 263 (1961)

15 GRÖTSCH, H. und HADJU, P.: Automatische Bestimmung von Enzymaktivitäten in tierischen Seren mit dem Reaction Rate Analyser 8600. Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 9. Jg. 1971, S. 123 - 125

16 GRÖTSCH, H. und HADJU, P.: Automatische Bestimmung von Enzymaktivitäten in tierischen Seren mit dem Reaction Rate Analyser 8600. Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 10. Jg. 1972, S. 334 - 337

17 GROSS, LÖHR, WALLER: Genetic Defects in Platalet Metabolism as a Cause of Thrombocytopathiasis. Biochemestry of Blood Platelets S. 161 - 171 Academic Press, London and New York (1966)

18 GUCKIAN: Role of Metabolism in Pathogenesis of Bacteriemia Due to Diplococcus pneumoniae in Rabbits. J. Infections Deseares 127 S. 1 - 7 (1973)

29 LI, C.Y., YAM, C.T. und LAM, K.W.: Acid Phosphatase Isoenzyme in Human Leucocytes in Normal and Pathologic Conditions.
J. Histochem. Cytochem. 18 S. 437 - 481 (1970)

30 LI, C.Y., YAM, C.T. und LAM, K.W.: Studies of Acid Phosphatase Isoenzymes in Human Leucocytes Demonstration of Isoenzyme Cell Specifity.
J. Histochem. Cytochem. 18 S. 901 - 910 (1970)

31 LUSCHER, W.: Thrombozytenfaktoren.
Ergebn. Phys. 50 S. 1 - 74 (1959)

32 METHFESSEL, J. und DEML, L.: Vergleichende Untersuchungen über Enzymaktivitäten in Blutplasma und -serum von Mensch, Kaninchen und Ratte.
2. klin. Chem. u. klin. Biochem. 5. Jg. Heft 6 S. 287 - 291

33 MOLANDER, D., WROBLEWSKI, F. und LA DUE, J.: Serum Glutamat-Oxalacetat-Transaminase As an Indes of Hepatocellular Integrity.
J. lab. clin. Med. 46 S. 831 - 839 (1955)

34 MOOG, F., VIRE, H.R. und GREY, R.D.: The Forms of Alkaline Phosphatase in the Small Intestine of the Young Mouse.
Biochem. Biophys. Acta 113 S. 336 - 349 (1966)

35 NAGEL, WILLIG und SCHMIDT: Methode zur Bestimmung der Leucin-Aminopeptidase.
Klin. Wschr. 42 S. 447 (1964)

36 NÜSKE, R. und VENNER, H.: Die Isoenzymfraktionen der unspezifischen alkalischen Phosphomonoesterase.
Biochem. Zeitung 346 S. 226 - 243 (1966)

37 RAPOPORT: Medizinische Biochemie.
5. Auflage S. 416

38 RICHTERICH, R.: Enzympathologie.
Typeneinteilung der sauren Phosphatase S.612/13
Vorkommen der alkalischen Phosphatase S. 360/61
1. Auflage Heidelberg: Springer 1958

39 RICHTERICH, R., COLOMBO, I.P. und WEBER, H.: Ultramikromethoden im klinischen Laboratorium.
VII Bestimmung der sauren Phosphatase.
Schweiz. med. Wschr. 92 S. 1496 - 1500 (1962)

19 HARBOE, M.: A Method for Determination of Haemoglobin in Plasma By Near ultraviolett Spectrophotometrie.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 11 S. 66 - 70 (1959)

20 HAUSS, LEPPELMANN: Über Änderungen von Fermentaktivitäten im Serum als Ausdruck einer unspezifischen Reaktion des Organismus.
Klin. Wschr. 35 , I Mitteilung S. 65 - 70 (1957), II Mitteilung S. 71 - 74 (1957)

21 HAUSS, LEPPELMANN und PLÄNITZ: Über Schwankungen von Fermentaktivitäten in der Leber bei experimentellen Eingriffen und bei Infektionskrankheiten.
Klin. Wschr. 35 S. 957 - 946 (1957)

22 HODSON, A.W., LAFNER, A.L. und RAINE, L.: Isoenzyme of Alkaline Phosphatase.
Clin. Chem. Acta 7 S. 255 ff (1962)

23 HORN, H.D. und AMELUNG, D.: Die Bedeutung von Transaminasen- und Milchsäuredehydrogenasebestimmung bei Lebererkrankungen.
Dtsch. med. Wschr. 82 S. 619 - 626 (1957)

24 JACOBSON: The Determination of Tartrate-Inhibited-Phosphatase in Serum.
Scand. J. clin. Lab. Invest. 12 S. 367 - 380 (1960)

25 KARMEN et al.: Methode zur Bestimmung der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase.
J. clin. Invest. 34 S. 126 und S. 131 (1955)

26 KOLB, MEYER, MERTEN und SOLBACH: Die Beeinflussung der Enzymaktivitäten im Serum durch Mikrohämolyse bei der Serumgewinnung.
Mitt. dienst. GBK 2 S. 380 - 382 (1961)

27 KORNBERG, A., et al.: Methode zur Bestimmung der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase.
Methods in Enzymology I Academic Press New York (1955)

28 KRAUSS und PRIBAM: Staphylokokkentoxin und dessen Antitoxin.
Wien. Klin. Wschr. 17 S. 492 - 493 (1906)

40 RICHTERICH, R.: Blutentnahme (S. 87), Verwendung von Serum oder Plasma (S. 88), Hämolyse als Fehlerquelle (S. 89)
Klin. Chemie Theorie und Praxis, 3. erw. Auflage.
Akad. Verlagsges. Ffm/Main (1972)

41 SANDRITTER und HEYMANN: Ein Beitrag zur Morphologie der akuten Vergiftung mit bakteriellen Toxinen und Endotoxinen.
Frankfurter Ztschr. f. Pathologie 64 S. 285 - 293 (1953)

42 SCHMIDT, Ellen: Enzymdiagnostik.
3. Colloquium der Medizinischen Universitätsklinik
Wien (März 1962) S. 18 - 28

43 SCHMIDT, F.W. und Ellen: Untersuchungen über Alterung von Enzymen in vitro.
Enzymol. biol. clin. 3 S. 80 - 86 (1963)

44 SCHMIDT, Ellen, SCHMIDT, F.W., DORN, H.D. und GERLACH, M.: Die Bedeutung der Messung von Enzymaktivitäten in der Medizin. Aus Bergmeister, M.: Methoden der enzymatischen Analyse.
Verlag Chemie Weinheim/Bergstraße 2. Auflage
S. 651 - 712 (1970)

45 SCHMIDT, F.W. und Ellen: Enzymbestimmungen im Serum bei Lebererkrankungen. Funktionsmuster als Hilfsmittel der Diagnose.
Enzymol. biol. clin. 3 S. 1 - 52 (1963)

46 SMITH, I.M.: Metabolic Response of the Host to Staphylococcal Infection.
N.Y. Acad. Sci. 128 S. 335 - 349 (1965)

47 SOLBACH, H. G., ENGELHARDT, A. und MERTEN, R.: Unterschiede der Enzymaktivitäten in Serum und Plasma und ihre Bedeutung für die klinische Enzymdiagnostik.
Mitt. dienst. GBK 2 S. 375 - 379 (1961)

48 SOLBACH, H.G., ENGELHARDT, A. und MERTEN, R.: Unterschiede der Enzymaktivitäten in Serum und Plasma und ihre Bedeutung für die klinische Enzymdiagnostik.
Klin. Wschr. 40 S. 1136 - 1139 (1962)

49 SÜDHOF, H. und WÖTZEL, E.: Über die Haltbarkeit von zur Enzymaktivitätsbestimmung vorgesehener Serumproben.
Klin. Wschr. 38 S. 1165 - 1167 (1960)

Wissenschaftliche Tabellen: Berechnung von Mittelwert und Varianz (S. 160), Berechnung von Regressionsgeraden (S. 175).
Dokumenta Geigy 7. Auflage (1968)

51 WROBLEWSKI, F., et al.: Methode zur Bestimmung der Lactat-Dehydrogenase.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 90 S. 210 (1955)

52 WROBLEWSKI, F., et al.: Methode zur Bestimmung der Glutamat-Pyruvat-Transaminase.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 91 S. 569 (1956)

53 ZUCKER, M. und BORELLI, J.: Platelets as a Source of Serum Acid Nitrophenylphosphatase.
J. clin. Invest. 38 S. 148 - 154 (1959)

54 ZUCKER, M. and BORELLI, J.: A Survey of some Plateletenzymes and Functions: The Platelets as a Source of Normal Serum Acid Glycerophosphatase.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 55 S. 203 - 213 (1958)

An dieser Stelle möchte ich dem Direktor des Hygiene-Institutes der Universität Tübingen, Herrn Professor Dr. med. R.-E. Bader, für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes danken.
Bei Herrn Universitätsdozent Dr. med. U. Ullmann möchte ich mich für die Überlassung des Themas, seine Unterstützung und Betreuung bedanken.
Ebenso gilt mein Dank Fräulein H. Petruschka, die bei der Herstellung der Graphiken behilflich war.

Lebenslauf

Am 15.5.1947 wurde ich, Klaus-Herbert Manncke, als Sohn des Kaufmanns Friederich Manncke und seiner Ehefrau Maria-Elisabeth Manncke geborene Seuffert in Köln-Hohenlind geboren.

Meine Einschulung in die kath. Volksschule Freiligrathstraße erfolgte Ostern 1953, die in das städt. math.-naturwiss. Humboldt-Gymnasium Ostern 1958. Im Juli 1967 legte ich dort die Reifeprüfung ab.

Nach einjährigem Wehrdienst nahm ich im Wintersemester 1968/1969 das Medizinstudium an der Universität Köln auf. Hier bestand ich im Oktober 1969 die Naturwissenschaftliche und im März 1971 die Ärztliche Vorprüfung. Vom Sommersemester 1972 an führte ich mein Studium an der Universität Tübingen fort. Hier bestand ich am 29. Januar 1975 die Ärztliche Prüfung.

Nach je einer viermonatigen Ausbildungszeit als Medizinalassistent am Hygiene-Institut, der Medizinischen Klinik und der Chirurgischen Klinik der Universität Tübingen erhielt ich im März 1976 die Approbation als Arzt.
Vom April 1976 bis Oktober 1977 war ich eineinhalb Jahre als wissenschaftlicher Angestellter am Pathologischen Institut beschäftigt.
Seither arbeite ich als wissenschaftlicher Angestellter in der Chirurgischen Klinik der Universität Tübingen.